AMEA-nın Xəbərləri (biologiya və tibb elmləri), cild 69, №2, səh. 95-101 (2014)

Yumşaq Buğdanın (*T. aestivum* L.) Genetik Müxtəlifliyinin ISSR Markerlərlə Qiymətləndirilməsi

S.Ə. Nuriyeva[1*], Z.İ. Əkpərov[1], M.Ə. Abbasov[1,2], X.N. Rüstəmov[1], H.B. Sadıqov[1], C.M. Ocaqi[1], F.A. Şeyxzamanova[1], S.P. Rzayeva[1], R.C. Sharma[3]

[1]AMEA Genetik Ehtiyatlar İnstitutu, Azadlıq pros.,155, Bakı AZ1148, Azərbaycan;
[2]Bakı Dövlət Universiteti, Z.Xəlilov küc., 23, Bakı AZ1048, Azərbaycan;
[3] Quraq Ərazilərdə Aqrar Tədqiqatlar üzrə Beynəlxalq Mərkəz (İCARDA), Daşkənd, Özbəkistan;
**E-mail: sevindj_72@hotmail.com*

Tədqiqat işində yumşaq buğdanın 6 növmüxtəlifliyinə aid 50 nümunəsinin genetik müxtəlifliyinin ISSR markerlərlə qiymətləndirilməsinin nəticələri təhlil edlmişdir. İstifadə olunmuş 12 ISSR praymerindən 7-si yüksək polimorfizmə malik olduğundan, tədqiqat materialının genetik müxtəlifliyi həmin praymerlərin nəticələri əsasında analiz olunmuşdur. 7 ISSR praymeri vasitəsilə 50 genotipdə 65 polimorf bənd aşkar olunmuş və Ney oxşarlıq indeksi əsasında qurulmuş dendroqramda nümunələr 5 klasterdə qruplaşmışdır. Klaster analizinin nəticələri göstərmişdir ki, eyni növmüxtəlifliyinə aid olan genotiplər əsasən eyni qruplarda birləşmişlər. Bu isə buğda bikisində növmüxtəliflik əlamətlərinin seleksiya işlərində mühümlüyünü bir daha təsdiq etmişdir. ISSR markerlərinin nəticələrinə görə genetik cəhətdən uzaq kimi qiymətləndirilən genotiplərdən seleksiya işlərində başlanğıc material kimi istifadə oluna bilər. UBC811, UBC841 və UBC827 praymerləri ilə amplifikasiya olunmuş ümumi və polimorf bəndlərin sayının, polimorfizm dərəcəsinin, PIC, EMR, MI və RP kimi müxtəliflik indeksi qiymətlərinin yüksək olmasını nəzərə alaraq, onların yumşaq buğda genotiplərinin genetik strukturunun tədqiqində effektiv praymer kimi istifadə olunması tövsiyə olunur.

Açar sözlər: *T. aestivum* L., *genetik müxtəliflik, botaniki növmüxtəlifliyi, İSSR marker*

GİRİŞ

Azərbaycan buğda bitkisinin əsas mənşə mərkəzlərindən biri olmaqla yüksək genetik müxtəlifliyə malikdir. Azərbaycanda yayılmış buğda növlərinin, növmüxtəlifliklərinin və populyasiyaların toplanılması işi ölkədə uğurla həyata keçirilmiş və bu gün Milli Genbankda 2000-dən artıq nümunəni əhatə edən buğda kolleksiyası yaradılmışdır (Əliyev, Əkpərov, 2002, 2008, Məmmədov, 2006).

Məlumdur ki, Keçmiş Sovet İttifaqına daxil olan ölkələrdə dünyanın digər ölkəri ilə müqayisədə bitkilərin təsnifatı çox dərindən öyrənilmiş və biomorfoloji əlamətlər əsasında növ daxilində populyasiyaların qiymətləndirilməsi həyata keçirilmişdir. Zəngin genetik ehtiyatların toplanması, qorunması, qiymətləndirilməsi və pasportlaşdırılması olduqca əhəmiyyətlidir. Dənli taxıl bitkilərində, xüsusən buğda və arpa bitkilərində növmüxtəliflik əlamətlərinin müəyyən olunması və onlar əsasında kolleksiyaların qiymətləndirilməsi işi həmişə aktual olmuşdur (Əkpərov, 2007, Abbasov, 2012).

Heksaploid yumşaq buğda növü (*Tríticum aestivum L.*) Birləpəlilər (*Monocarpidea*) sinfinin Qırtıckimilər (*Poaceae Barnh.*) fəsiləsinin Buğda (*Tríticum)* cinsinə aiddir. Mədəni bitki növləri, o cümlədən yumşaq buğdalar növ (*specie*) daxilində daha kiçik təsnifat vahidlərinə bölünürlər–növaltı (*subspecies*), növmüxtəliflikləri qrupu (*convarietas*), növmüxtəliflikləri yarımqrupu (*subconvarietas*), növmüxtəliflikləri (*varietas*) və forma. Növmüxtəliflikləri müxtəlif fenetik keyfiyyət–marker əlamətlərinə əsasən təyin olunur. Yumşaq buğda növmüxtəlifliklərinin əsas əlamətləri aşağıdakılardır: 1) çiçək pulcuqlarının qılçıqlı və ya qılçıqsız olması; 2) sünbülcük pulcuqlarının tükcüklü və ya çılpaq olması; 3) sünbülcük pulcuqlarının rəngi (ağ, qırmızı, qara ağ fonda, qara qırmızı fonda, boz-tüstülü ağ fonda, boz-tüstülü qırmızı fonda); 4) qılçıqların rəngi–sünbülcük pulcuqları ilə eyni rəngdə və ya qara; 5) dənin rəngi–müxtəlif çalarlarda ağ və ya qırmızı (Мустафаев, 1973, Дорофеев, 1979, 1987, Гончаров, 2009, Rüstəmov, 2013).

Yumşaq buğdanın növdaxili təsnifatı – növmüxtəliflikləri, əsasən, F.Alefeld (1866), F.Köernicke (1885), N.İ.Vavilov və K.A.Flaksberqer (1935), R.Mansfeld (1951), İ.D.Mustafayev (1973), V.F.Dorofeev, A.A.Filatenko və b. (1979-1980), N.P.Qonçarov (2009) tərəfindən öyrənilmişdir: *var. lutescens* (Alef. 1866) Mansf. 1951, *var. graecum* (Koern. 1893) Mansf. 1951, *var. erythroleucon* Koern. 1873, *var. erythrospermum* Koern. 1873, *var. ferrugineum* (Alef. 1866) Mansf. 1951 və s.

(Мустафаев, 1973, Rüstəmov, 2013).

Son vaxtlar aparılmış molekulyar tədqiqat işlərinin nəticələri göstərmişdir ki, eyni növmüxtəlifliyə malik olan nümunələr arasında polimorfizm yüksək olmur və növmüxtəliflik əlamətləri nümunələrin genetik müxtəlifliyinin qiymətləndirilməsində önəmli rola malikdir (Abbasov, 2012). Odur ki, biz kolleksiyada saxlanılan bütün nümunələri növmüxtəliflik əlamətlərinə görə qiymətləndirməklə yanaşı, onların genetik müxtəlifliyinin tədqiqində molekulyar markerlərdən də istifadəni əsas istiqamət kimi seçmişik. Məlumdur ki, PZR (polimeraz zəncirvari reaksiyası) əsaslı genetik markerlərin tətbiqinin sadəliyi və az miqdarda DNT-dən istifadəyə əsaslanması praktikada onlardan intensiv şəkildə faydalanmağa imkan verir. ISSR-lərin (mikrosatellitlər arası ardıcıllıq təkrarları) genom boyu təsadüfi paylanması və çoxmövqeli xüsusiyyəti, həmçinin sadalanan göstəricilərlə səciyyələnən RAPD (təsadüfi amplifikasiya olunan polimorf DNT) markerlərindən fərqli olaraq, daha yüksək təkrarlanma qabiliyyəti, AFLP (amplifikasiya olunmuş fraqmentlərin uzunluğu polimorfizmi) markerləri ilə müqayisədə isə iqtisadi cəhətdən daha az vəsait tələb etməsi onların müxtəlif bitkilərin genetik müxtəlifliyinin tədqiqində geniş səviyyədə tətbiqinə səbəb olmuşdur. ISSR-lər 4-12 nukleotid ardıcıllıqlarından ibarət mikrosatellit təkarları olub, sonluqlarına istənilən 2 və ya 4 nukleotidin birləşdiyi markerlərdirlər. ISSR markerləri iki mikrosatellit arasında kifayət qədər yaxın olan DNT fraqmentinin amplifikasiyasını həyata keçirir. ISSR markerlərində nukleotidlərin sayının çox olması PZR zamanı praymerin birləşmə temperaturunun yuxarı olmasını tələb edir və öz növbəsində cari markerlərin yüksək təkrarlanma qabiliyyətinə zəmanət verir. Lakin qeyd etmək lazımdır ki, bu praymerlər də RAPD və AFLP markerləri kimi dominant markerlər sırasına daxildir (Schaal, 1991, Paul, 1998, Han, 2007).

Cari tədqiqat işində məqsəd Milli Genbankda saxlanılan 50 yumşaq buğda nümunəsinin genetik müxtəlifliyinin ISSR markerləri əsasında qiymətləndirməkdən ibarət olmuşdur.

MATERİAL VƏ METODLAR

Tədqiqat materialı kimi yumşaq buğdanın Azərbaycanın müxtəlif bölgələrindən toplanılmış 6 növmüxtəlifliyinə aid 50 nümunəsindən istifadə edilmişdir (Cədvəl 1).

Nüvə genomunun ekstraksiyası və PZR-nın aparılması

DNT buğda bitkisinin cavan yarpaqlarından Doyle and Doyle metodu əsasında ekstraksiya edilmiş və 100 µldistillə suyunda həll edildikdən sonra -20°C-də saxlanılmışdır (Doyle, 1990). Bütün nümunələrdə DNT-nin təmizlik dərəcəsi Nanodrop cihazi vasitəsilə yoxlanılmış və onlar müvafiq qatılıqda durulaşdırılmışdır. Tədqiqatda 12 ISSR praymerindən istifadə edilmişdir. Hər nümunə üçün

Cədvəl 1. Azərbaycanın müxtəlif bölgələrindən toplanılmış yumşaq buğda nümunələri

№	Növmüxtəlifliyi və nümunənin adı	Toplandığı yer və il	№	Növmüxtəlifliyi və nümunənin adı	Toplandığı yer və il
1	*var. graecum 1*	Şamaxı, 2006	26	*var. erythrospermum 4*	Şamaxı, 2008
2	*var. graecum 2*	Şamaxı, 2006	27	*var. erythrospermum 5*	Şamaxı, 2008
3	*var. graecum 3*	Qarayazı, 2006	28	*var. erythrospermum 6*	Şamaxı, 2008
4	*var. graecum 4*	Tər-tər, 2006	29	*var. erythrospermum 7*	Şamaxı, 2008
5	*var. graecum 5*	Şəki, 2006	30	*var. erythrospermum 8*	Zaqatala, 2008
6	*var. graecum 6*	Oğuz, 2006	31	*var. erythrospermum 9*	Balakən, 2008
7	*var. graecum 7*	Qəbələ, 2008	32	*var. lutescens 1*	Şamaxı, 2008
8	*var. graecum 8*	Qəbələ, 2008	33	*var. lutescens 2*	Şəki, 2008
9	*var. milturum 1*	Şamaxı, 2006	34	*var. lutescens 3*	Şamaxı, 2008
10	*var. milturum 2*	Yevlax, 2006	35	*var. lutescens 4*	Şamaxı, 2008
11	*var. milturum 3*	Tər-tər, 2006	36	*var. lutescens 5*	Şamaxı, 2008
12	*var. milturum 4*	Tər-tər, 2006	37	*var. lutescens 6*	Şamaxı, 2008
13	*var.miturum 5*	Şəki, 2006	38	*var. lutescens 7*	Zaqatala, 2008
14	*var. milturum 6*	Şəki, 2006	39	*var. lutescens 8*	Qəbələ, 2008
15	*var.milturum 7*	Oğuz, 2006	40	*var. erythroleucon 1*	Tər-tər, 2006
16	*var. ferrugineum 1*	Şəki, 2008	41	*var. erythroleucon 2*	Tər-tər, 2006
17	*var. ferrugineum 2*	Şamaxı, 2008	42	*var. erythroleucon 3*	Bərdə, 2006
18	*var. ferrugineum 3*	Şamaxı, 2008	43	*var. erythroleucon 4*	Şəki, 2006
19	*var. ferrugineum 4*	Şamaxı, 2008	44	*var. erythroleucon 5*	Şəki, 2006
20	*var. ferrugineum 5*	Şamaxı, 2008	45	*var. erythroleucon 6*	Şəki, 2006
21	*var. ferrugineum 6*	Balakən, 2008	46	*var. erythroleucon 7*	Oğuz, 2006
22	*var. ferrugineum 7*	Qəbələ, 2008	47	*var. erythroleucon 8*	Abşeron, 2006
23	*var. erythrospermum 1*	Şamaxı, 2008	48	*var. erythroleucon 9*	Qəbələ, 2006
24	*var. erythrospermum 2*	Şamaxı, 2008	49	*Standart- Aran (1)*	
25	*var. erythrospermum 3*	Şamaxı, 2008	50	*Sstandart Aran (2)*	

ümumi reaksiyanın həcmi 25 µl təşkil etmişdir. Hər 20 µl reaksiya qarışığı 50 nq DNT, bufer [10 mM Tris–HCl pH 8.0 ,50 mM KCl, 1.5 mM $MgCl_2$], 5 mM $MgCl_2$, 10 mM hər bir dNTP-dən, 10mM praymer və 0.1 µl Taq polimeraza fermentindən ibarət olmuşdur. Polimeraza zəncirvari reaksiyası amplifikator aparatında 5 dəqiqə müddətində 94°C temperaturda DNT-nin denaturasiyası ilə başlanılmış və 3 mərhələdən – 1 dəqiqə 94°C, 2 dəqiqə 50°C və 5 dəqiqə 72°C ibarət olmaqla 35 dövr ardıcıllıqla icra edilmişdir. Amplifikasiya məhsulları 2%-li aqaroza gelində elektroforez edilməklə ayrılmış, etidium bromid məhlulu ilə rənglənmiş və şəkilləri Bio-Rad Gel sistemi vasitəsilə çəkilmişdir. Amplifikasiya olunmuş DNT fraqmentlərinin analizində SPSS12, PowerMarker və PAST kompüter proqramlarından istifadə edilmişdir. Bütün analizlər AMEA Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun Biotexnologiya şöbəsində yerinə yetirilmişdir.

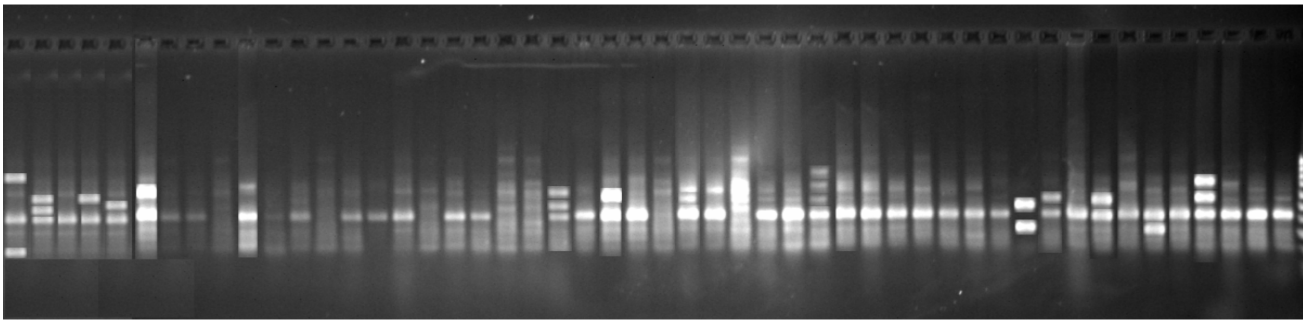
NƏTİCƏLƏR VƏ ONLARIN MÜZAKİRƏSİ

Öyrənilən 50 yumşaq buğda genotipləri arasında polimorfizmi müəyyənləşdirmək məqsədi ilə 12 ISSR praymerindən istifadə olunmuşdur. Onlardan 7 ISSR praymeri vasitəsilə yüksək keyfiyyətli və aydın bəndlər aşkar olunduğundan, yumşaq buğda nümunələrinin genetik müxtəlifliyinin analizində bu praymerlərlə əldə olunan nəticələrdən istifadə edilmişdir (Cədvəl 2).

Öyrənilən yumşaq buğda genotiplərində 7 müxtəlif ISSR praymeri vasitəsilə 71 amplifikasiya fraqmenti aşkar edilmişdir ki, onlardan da 65-i polimorf olmuşdur (Şəkil 1). Praymerlər vasitəsilə amplifikasiya olunmuş bəndlərin sayı 7-16 arasında (uyğun olaraq, UBC 873 və UBC 827), polimorfluğun faizlə göstəricisi isə 100-70 % arasında dəyişərək, orta qiyməti 91,3-ə bərabər olmuşdur (cədvəl 2). Hər bir praymer vasitəsilə amplifikasiya olunmuş bəndlərin və polimorf bəndlərin orta qiymətləri, müvafiq olaraq, 10,1 və 9,28 hesablanmışdır.

Öyrənilən yumşaq buğda genotiplərində 7 müxtəlif ISSR praymeri vasitəsilə 71 amplifikasiya fraqmenti aşkar edilmişdir ki, onlardan da 65-i polimorf olmuşdur. Praymerlər vasitəsilə amplifikasiya olunmuş bəndlərin sayı 7-16 arasında (uyğun olaraq, UBC 873 və UBC 827), polimorfluğun faizlə göstəricisi isə 100-70 % arasında dəyişərək, orta qiyməti 91,3-ə bərabər olmuşdur (cədvəl 2). Hər bir praymer vasitəsilə amplifikasiya olunmuş bəndlərin və polimorf bəndlərin orta qiymətləri, müvafiq olaraq, 10,1 və 9,28 hesablanmışdır.

Molekulyar markerlərlə aparılmış işlərin nəticələri göstərir ki, tədqiqatçılar buğda nümunə-



Şəkil 1. ISSR-841praymeri ilə amplifikasiya olunmuş DNT fraqmentləri

Cədvəl 2. ISSR markerləri əsasında əldə olunmuş genetik parametrlər

Praymer	Ardıcıllıq (5'-3')	AOB	PBS	PBF	PIC	EMR	MI	RP
UBC810	$(GA)_8T$	8	7	87,5	0,91	7,12	6,50	4,20
UBC811	$(GA)_8C$	9	9	100	0,89	8	7,11	5,32
UBC841	$(GA)_8YC$	10	10	100	0,88	10	8,80	6,20
UBC873	$(GACA)_4$	7	7	100	0,90	7	6,33	3,20
UBC827	$(AC)_8G$	16	16	100	0,77	7	5,38	6,80
UBC112	$(GA)_8A$	10	7	70,0	0,90	4	3,63	3,68
UBC808	$(AG)_8C$	11	9	81,8	0,86	6,40	8	3,40
Total	-	71	65	-	-	-	-	-
Minimum	-	7	7	70	0,77	4	3,63	3,20
Maksimum	-	16	16	100	0,91	10	8,80	6,80
Orta qiymət	-	10,1	9,28	91,3	0,87	7,07	6,53	4,68

Qeyd: Y – sitozin (C) və ya timin (T); AOB - amplifikasiya olunmuş bəndlər; PBS -polimorf bəndlərin sayı; PIC - polimorf informasiyanın həcmi; EMR - effektiv multipleks nisbəti; MI -marker indeksi; RP - separasiya gücüdür.

lərində DNT-nin polimorfizmlərinin aşkarlanmasında fərqli praymerlərdən istifadə edərək, müxtəlif nəticələr əldə etmişlər. Aydogan Cifci və Yagdi (2012) 16 yumşaq buğda genotipinin genetik müxtəlifliyini 17 müxtəlif RAPD praymeri vasitəsilə tədqiq edərək, 6,47-yə, Dashchi və həmkarları (2012) isə ISSR praymeri əsasında öyrənərək 9,17-yə bərabər polimorf bəndlər aşkar etmişlər (Dashchi, 2012). Paul və həmkarları 124 yumşaq buğda nümunəsinin genomundakı polimorfizmi RFLP markerləri vasitəsilə qiymətləndirərək 3,30-a bərabər polimorf bənd müşahidə etmişlər (Paul, 1998). Altintas və həmkarlarının (2007) 22 yumşaq buğda nümunəsinin genomunda AFLP markerləri əsasında təyin etdikləri bəndlərin 47%-i polimorf olmuş, SAMPL praymerləri ilə aşkarlanmış polimorf lokusların orta qiyməti isə 20,2-ə bərabər olmuşdur. Beləliklə, cari tədqiqatın nəticələrinin müvafiq ədəbiyyat məlumatları ilə müqayisəsi istifadə olunmuş ISSR markerlərinin effektivliyi və informativliyini təsdiqləməklə, yumşaq buğda genotiplərinin genetik müxtəlifliyinin öyrənilməsində polimorfizmin yüksək səviyyəsinin aşkarlandığını göstərir.

Tədqiqatda 2 – $(GA)_n$, $(GA)_n$ və $(AC)_n$ və 4 nukleotid ardıcıllığından $(GACA)_n$ ibarət ISSR praymerləri yüksək polimorf praymerlər kimi fərqlənmişdir. Praymer üçün hesablanmış PIC parametrinin qiyməti 0,77-0,91 arasında dəyişmiş, onun böyük və kiçik qiymətləri, uyğun olaraq, UBC 810 və UBC 827 praymerlərinə uyğun olmuşdur. ISSR praymerləri vasitəsilə əldə olunmuş PIC kəmiyyətinin böyük qiymətlər almasını buğda nümunələrinin zəngin genetik müxtəlifliyi və ya istifadə olunmuş praymerlərin yüksək effektivliyi ilə izah etmək mümkündür.

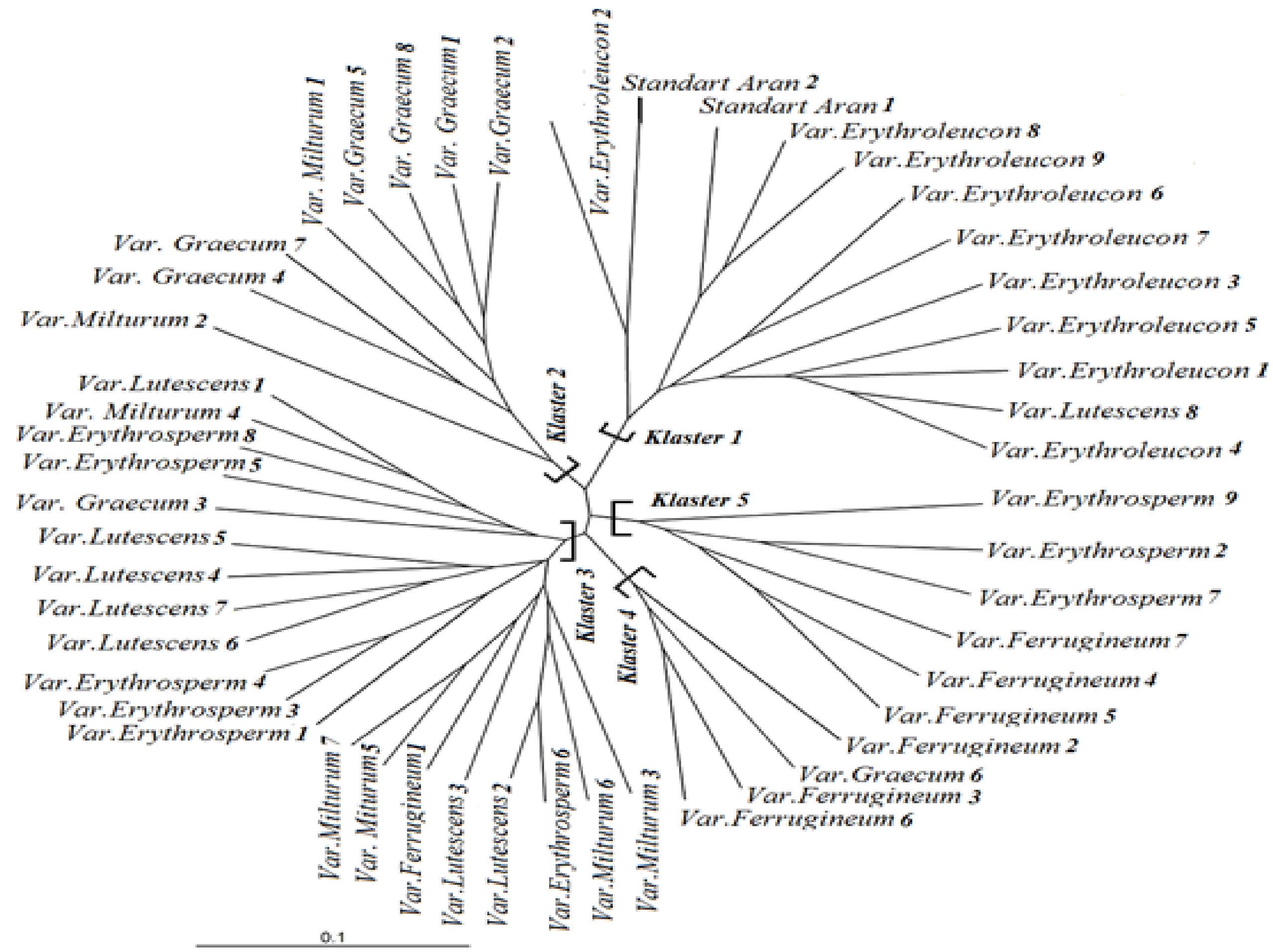
Marker indeksi (Mİ) praymerlərin effektivliyini qiymətləndirən göstəricilərdən biridir və cari tədqiqat işində onun müxtəlif praymerlər üçün hesablanmış qiyməti 3,63-8,80 arasında dəyişmişdir. MI parametrinin maksimim qiyməti UBC841, minimum qiyməti isə UBC112 praymerləri ilə əldə olunmuş nəticələr əsasında təyin edilmişdir. Tədqiqat nəticəsində məlum olmuşdur ki, yüksək polimorfizmi aşkar edən ISSR praymerləri effektiv mutlipleks nisbətinin (EMR) yüksək qiyməti ilə səciyyələnirlər. Tətbiq olunmuş korrelyasiya analizi polimorfizmin faizi ilə EMR və MI arasında 95% ($P \leq 0.05$) statistik etibarlı, müsbət xətti asılılıqların mövcudluğunu göstərmişdir. EMR polimorf bəndlərin fraksiyasının, polimorf bəndlərin sayı və MI isə PIC və EMR parametrlərinin məhsuludur.

İstifadə olunmuş ISSR praymerləri üçün hesablanmış RP indeksinin qiyməti 3,20-6,80 arasında dəyişmiş, onun orta qiyməti 4,8-ə bərabər olmuşdur. Cədvəl 2-dən məlum olur ki, RP parametrinin maksimum göstəricisi UBC827, minimum göstəricisi isə UBC873 praymeri ilə əldə olunmuşdur. UBC827 və UBC841 praymerlərinin RP parametrinin maksimum qiymətləri ilə seçilmələri onların buğda genotiplərinin genetik müxtəlifliyinin öyrənilməsi və nümunələrin identifikasiyasında daha informativ olduqlarından xəbər verir.

Beləliklə, amplifikasiya olunmuş bəndlərin sayı, polimorf bəndlərin sayı, polimorfizmin faizi, PIC, EMR, MI və RP indekslərinin yüksək qiymətləri UBC811, UBC841 və UBC827 praymerlərinin yumşaq buğda genotiplərinin genetik strukturunun tədqiqində effektivliyini sübut edir və gələcəkdə bu istiqamətdə aparılacaq tədqiqatlarda onlardan istifadəni tövsiyə etməyə imkan verir.

ISSR praymerləri vasitəsi ilə əldə olunmuş nəticələr əsasında yumşaq buğda genotipləri arasındakı genetik məsafələri aşkar etmək və onları qruplaşdırmaq məqsədilə Ney oxşarlıq indeksi matrisindən istifadə olunmuşdur. UPGMA metodunun tətbiqi ilə aparılmış klaster analizi nəticəsində bütün yumşaq buğda nümunələri 5 əsas qrupda birləşmişlər (Şək. 2).

Birinci klaster *var. erythroleucon* növmüxtəlifliyinə aid bütün nümunələri, Standart Aran 1 və 2, həmçinin *var. lutescens* növmüxtəlifliyinə aid bir nümunəni - 8 nömrəli genotipi əhatə etməklə, 12 genotipdən ibarətdir. Müşahidə edildiyi kimi, klaster analizi ISSR markerləri əsasında *var. erythroleucon* növmüxtəlifliyinə aid genotipləri bir qrup daxilində birləşdirməklə, onların digər nümunələrdən fərqləndirilməsinə və identifikasiyasına səbəb olmuşdur. Bu qrupda genetik məsafə baxımından ən yaxın genetik oxşarlıq Nei genetik məsafə indeksinin 0,11 qiymətində *var. lutescens 8* ilə *var. erythroleucon 4* arasında, ən uzaq genetik məsafə isə 0,36-ya bərabər genetik məsafədə *var. erythroleucon 1* ilə *var. erythroleucon 7* və standart Aran2 ilə *var. erythroleucon 4* arasında aşkar edilmişdir. *Var. graecum* növmüxtəlifliyinə aid nümunələrin 75%-i ikinci qrupda birləşmiş, digər 25%-i, yəni 3 və 6 nömrəli genotiplər isə uyğun olaraq 3 və 4-cü klasterlərdə paylanmışlar. Bu, 3 və 6 nömrəli genotiplərin malik olduqları ISSR markerləri əsasında *var. graecum* növmüxtəlifliyinə aid digər, 1, 2, 4, 5 və 7 nömrəli nümunələrdən genetik cəhətdən kifayət qədər fərqləndiklərini göstərir. Yumşaq buğda genotiplərinin böyük əksəriyyəti – 40%-i üçüncü klasterdə lokallaşmışdır. *Var. milturum* növmüxtəlifliyinə aid 1 və 2 nömrəli nümunələr



Şəkil 2. ISSR markerləri əsasında 50 yumşaq buğda genotipinin klaster analizi əsasında qruplaşdırılması

istisna olmaqla, digər 5 nümunə (3, 4, 5, 6 və 7 nömrəli genotiplər), həmçinin *var. erythrospermum* növmüxtəlifliyinə aid 2, 7 və 9 nömrəli genotiplər istisna olmaqla, digər,1, 3, 4, 5, 6 və 8 nömrəli genotiplər və *var. lutescens* növmüxtəlifliyinin 87.5%-ni təşkil edən nümunələr (1, 2, 3, 4, 5, 6 və 7 nömrəli genotiplər) üçüncü klasteri təşkil edən genotiplərdir. Bir daha qeyd etmək lazımdır ki, *var. lutescens* növmüxtəlifliyinə aid yeganə nümunə, 8 nömrəli genotip birinci klasterdə yerləşməklə, genetik strukturuna görə tədqiq olunmuş *var. lutescens* növmüxtəlifliyinə aid digər nümunələrdən tamamilə fərqlənmişdir.

Dördüncü klaster *var. ferrugineum* növmüxtəlifliyinə aid 2, 3 və 6 nömrəli və yalnız *var. graecum* növmüxtəlifliyinə aid 6 nömrəli genotiplərdən ibarət olmuşdur. Nəhayət, beşinci klasteri *var. ferrugineum* növmüxtəlifliyinə aid 4, 5,7 və *var. erythrospermum* növmüxtəlifliyinə aid 2, 7 və 9 nömrəli genotiplər təşkil etmişlər.

Kənd təsərrüfatı bitkilərinin məhsuldarlığının artırılmasında uzaq hibridləşmənin rolu əvəzedilməzdir. Belə ki, genetik cəhətdən uzaq olan nümunələrin hibridləşdirilməsi zamanı yüksək məhsuldarlığa və davamlılığa malik genotiplərin meydana çıxması ehtimalı yüksək olur. Klaster analizinin tətbiqində əsas məqsədlərdən biri tədqiq edilən yumşaq buğda nümunələri arasında genetik məsafələrin təyin olunmasıdır. Nəticələr göstərir ki, yumşaq buğdanın seleksiyasında valideyin forması kimi bir-birindən eko-coğrafi cəhətdən uzaq genotiplərdən istifadə olunması daha məqsədəuyğundur.

Beləliklə, cari tədqiqat işi əsasında alınan nəticələr yüksək heterozis effektinə malik nümunələrin yaradılmasında istifadə oluna bilər. Eyni zamanda ISSR markerləri ətraf mühit amillərinin təsirlərindən kənar olub, bilavasitə nüvə genomu səviyyəsində mövcud olan polimorfizmi aşkar etməyə qadir genetik markerlərdirlər. Tədqiqat zamanı 50 yumşaq buğda genotipinin genetik strukturunun ISSR praymerləri vasitəsilə öyrənilməsi nəticəsində genetik müxtəliflik indeksinin yüksək olması müşahidə edilmişdir. Əldə olunan nəticələr göstərir ki, seçilmiş İSSR markerlərdən Milli Genbankda saxlanılan buğda ehtiyatlarının qiymətləndirilməsində və özək kolleksiyaların yaradılmasında uğurla istifadə oluna bilər.

MINNƏTDARLIQ

Bu iş Azərbaycan Respublikası Prezidentinin yanında Elmin İnkişafı Fondunun maliyyə yardımı ilə yerinə yetirilmişdir (Qrant N EİF-2010-(1)-40/21-M-19).

ƏDƏBİYYAT SİYAHISI

Əliyev C.Ə., Əkpərov Z.İ. (2002) Azərbaycanın bitki genetik ehtiyatları. *AMEA-nın Xəbərləri (biologiya elmləri seriyası),* **1-6**:57-68.

Əliyev C., Əkpərov Z., Məmmədov A. (2008) Bioloji müxtəliflik. Bakı: Elm, 232 s.

Məmmədov A.T., Konopka J., Əkpərov Z.İ. (2006) Azərbaycanın bitki genetik ehtiyatlarının Mərkəzi Məlumat Bazası. *"Biomüxtəlifliyin genetik ehtiyatları" I Beynəlxalq konfransın materialları,* Bakı, 27-28 İyun, s.255.

Əkpərov Z.İ., Məmmədov A.T. (2007) Bitki genetik ehtiyatlarının əsas tədqiqat strategiyaları. *Azərbaycan Aqrar Elmi,* **1-3:**120-124.

Rüstəmov X.N., Abbasov M.Ə., Quliyev Ş.B. (2013) Yumşaq buğdaların (*T.aestivum* L.) təsnifatina dair. *AMEA Xəbərləri (biologiya və tibb elmləri),* **68(1):** 67-75.

Мустафаев И.Д. (1973) Определитель пшеницы Азербайджана. 148с.

Дорофеев В.Ф., Филатенко А.А., Мигушова Э.Ф. и др. (1979) Культурная флора СССР (Под общ. руков. В.Ф. Дорофеева), **Т. 1:** Пшеница, 346 с.

Дорофеев В.Ф., Удачин Р.А., Семенова Л.В. и др (1987) Пшеницы мир (Под ред. В.Ф. Дорофеева. Составитель Р.А. Удачин), 2-е издание, 560 с.

Гончаров Н.П. (2009) Определитель разновидностей мягкой и твердой пшениц. Новосибирск: Изд. СО Российской Академии Наук, 67 с.

Abbasov M., Babayeva S., Bowden R., Amand P., Poland J., Raupp J., Sehgal S., Gill B. (2012) Resistance in Azerbaijani durum and bread wheat accesions to leaf and stem rust. *Annual What Newsletter, Volume 58,* Kansas State University, Manhattan, KS, USA, **64-66**.

Altıntaş S., Toklu F., Kafkas S., Kilian B., Brandolini A., Özkan H. (2008) Estimating Genetic Diversity in durum and bread wheat cultivars from Turkey using AFLP and SAMPL Markers. *Plant Breeding,* **127**: 9–14.

Aydogan Cifci E., Yagdi K. (2012) Study of genetic diversity in wheat (*Triticum aestivum*) varities using random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Turkish Journal of Field Crops,* **17(1):**91-95.

Dashchi S., Abdollahi Mandoulakani B., Darvishzade R., Bernousi I. (2012) Molecular similarity relationships among Iranian bread wheat cultivars and breeding lines using ISSR markers. *Not Bot Horti Agrobo*, **40(2):** 254-260.

Doyle J. J., Doyle J. L. (1990) A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus,* **12:**13-15.

Han Y.C., Teng C.Z., Zhong S. (2007) Genetic variation and clonal diversity in population of *Nelumbon ucifera* (Neloum bonaceae) in central China detected by ISSR markers. *Aquatic Botany,* **86**:67-75.

Оценка Генетического Разнообразия Мягкой Пшеницы (*T.aestivum* L.) С Помощью ISSR Маркеров

С.А. Нуриева[1], З.И. Акперов[1], М.А. Аббасов[1,2], Х.Н. Рустамов[1], Г.Б. Садыгов[1], Дж.М. Оджаги[1], Ф.А. Шейхзаманова[1], С.П. Рзаева[1], Р. Шарма[3]

[1]*Институт генетических ресурсов НАНА*
[2]*Бакинский государственный университет*
[3] *Международный центр по аграрным исследованиям на засушливых территориях (ICARDA), Ташкент, Узбекистан*

В статье приведены результаты оценки генетического разнообразия 50 генотипов мягкой пшеницы, относящихся к шести разновидностям, с использованием ISSR маркеров. Из 12-ти ISSR праймеров, только 7, проявляя высокий уровень полиморфизма, были использованы для дальнейшего анализа генетического разнообразия изучаемых генотипов. С применением 7 ISSR праймеров для 50-ти генотипов было амплифицировано 65 полиморфных фрагментов. С помощью дендрограммы, построенной на основе индекса генетического сходства Нея, генотипы были сгруппированы в 5 кластерах. Результаты кластерного анализа показали, что генотипы одной и той же разновидности, в основном, были объединены в одной группе. Это еще раз подтверждает важность признаков

разновидностей в селекции. Генетически отдаленные генотипы могут быть использованы в качестве исходного материала в селекционном процессе. Праймеры UBC-811, UBC-841 и UBC-827, с которыми выявлены наибольшее количество амплифицированных спектров, число полиморфных фрагментов, а также высокие показатели индексов генетического разнообразия (PIC, EMR и RP) и уровень полиморфизма могут быть рекомендованы как наиболее эффективные для изучения генетической структуры генотипов мягкой пшеницы.

Ключевые слова: *T.aestivum L., генетическое разнообразие, ботаническая разновидность, İSSR маркеры*

Evaluation of Genetic Diversity in Bread Wheat (*T.aestivum* L.) Using ISSR Markers

S. Nuriyeva[1], Z. Akparov[1], M. Abbasov[1,2], Kh. Rustamov[1], H. Sadigov[1], J. Ocaqi[1], F. Sheykhzamanova[1], S. Rzaeva[1], R. Sharma[3]

[1] *Institute of Genetic Resources, ANAS*
[2]*Baku State University*
[3] *International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA*), *Tashkent, Uzbekistan*

Genetic diversity of 50 bread wheat accessions belonging to 6 botanical varieties was studied using ISSR primers. Only 7 ISSR primers out of 12 which showed a high level of polymorphism were used for the genetic diversity analysis of the studied genotypes. Sixty five polymorphic fragments were identified with these primers and cluster analyses divided all genotypes into 5 main clusters according to the Nei's similarity index. The results of cluster analysis showed that the genotypes of the same botanical varieties generally were included into one group. This once again confirms the importance of botanical variety traits in breeding. Genetically distinct genotypes can be used in breeding as an initial material. The primers *UBC-811, UBC-841* and *UBC-827* with the highest number of amplified and polymorphic bands, the level of polymorphism and the highest value of genetic diversity, such as PIC, EMR and RP were recommended as the most appropriate primers to study genetic structure of bread wheat genotypes.

Key words: *T. aestivum L., genetic diversity, botanical vaieties, ISSR marker*